



*Regulación transcripcional
en semillas de cebada cv.
Bomi y su mutante alto en
lisina Riso-1508*

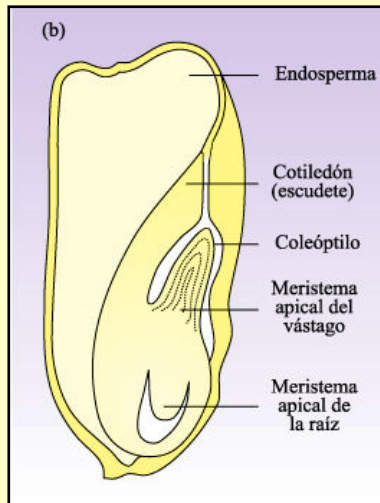
Centro de Biotecnología y Genómica de Plantas

Universidad Politécnica de Madrid

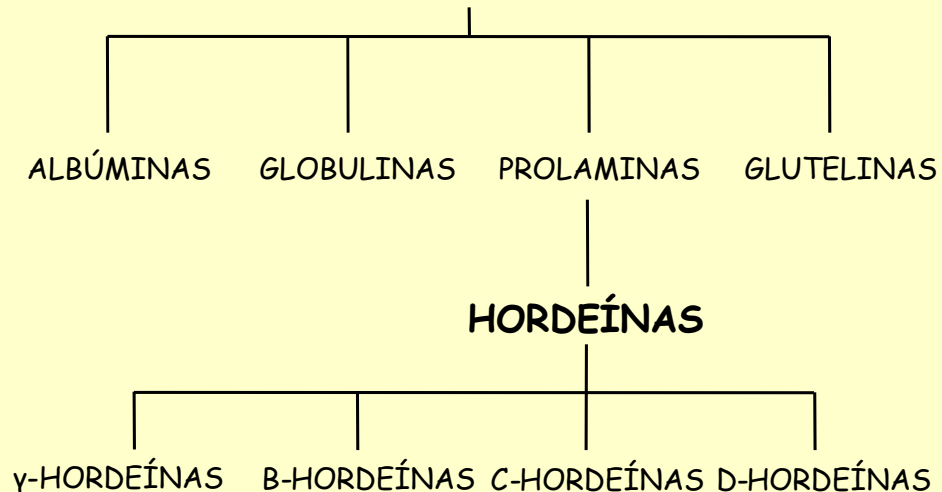
Regulación transcripcional en semillas de cebada

CEREALES CONSTITUYEN LA 1ª COSECHA MUNDIAL: 2500 millones T (FAO: 2007)

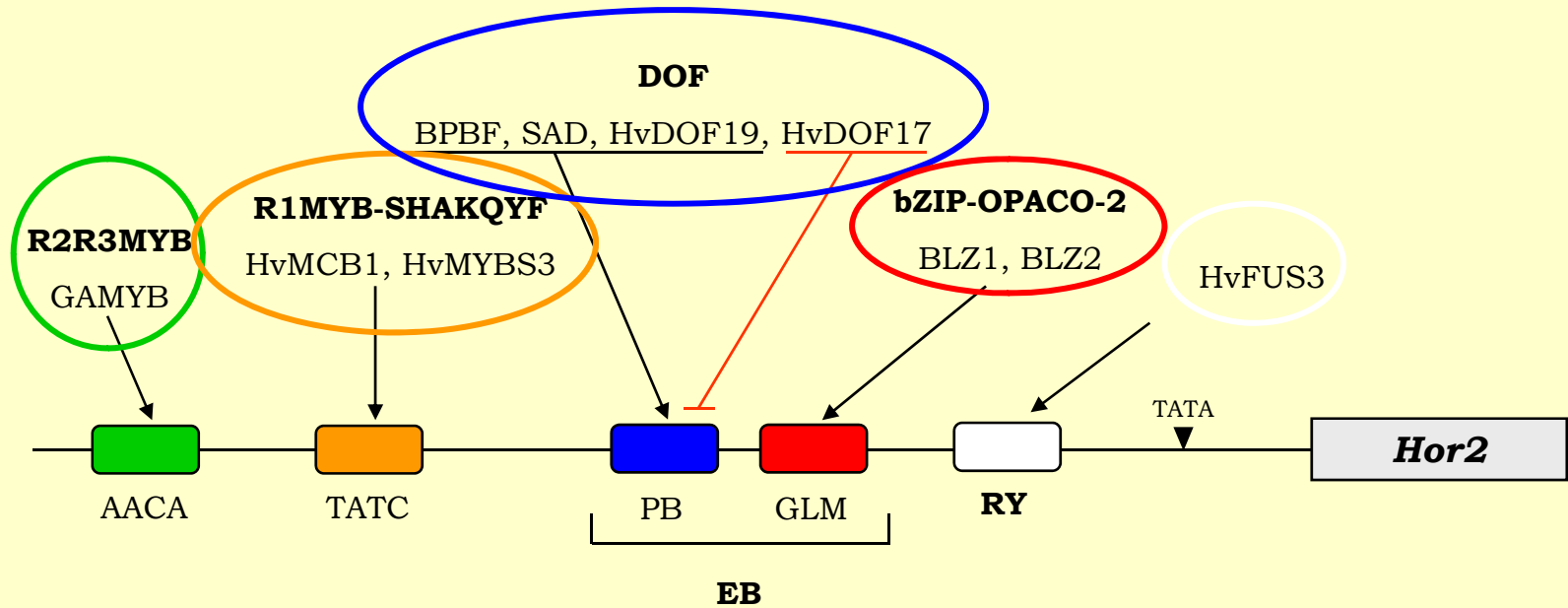
CEBADA SEMILLA ENDOSPÉRMICA: SUSTANCIAS DE RESERVA



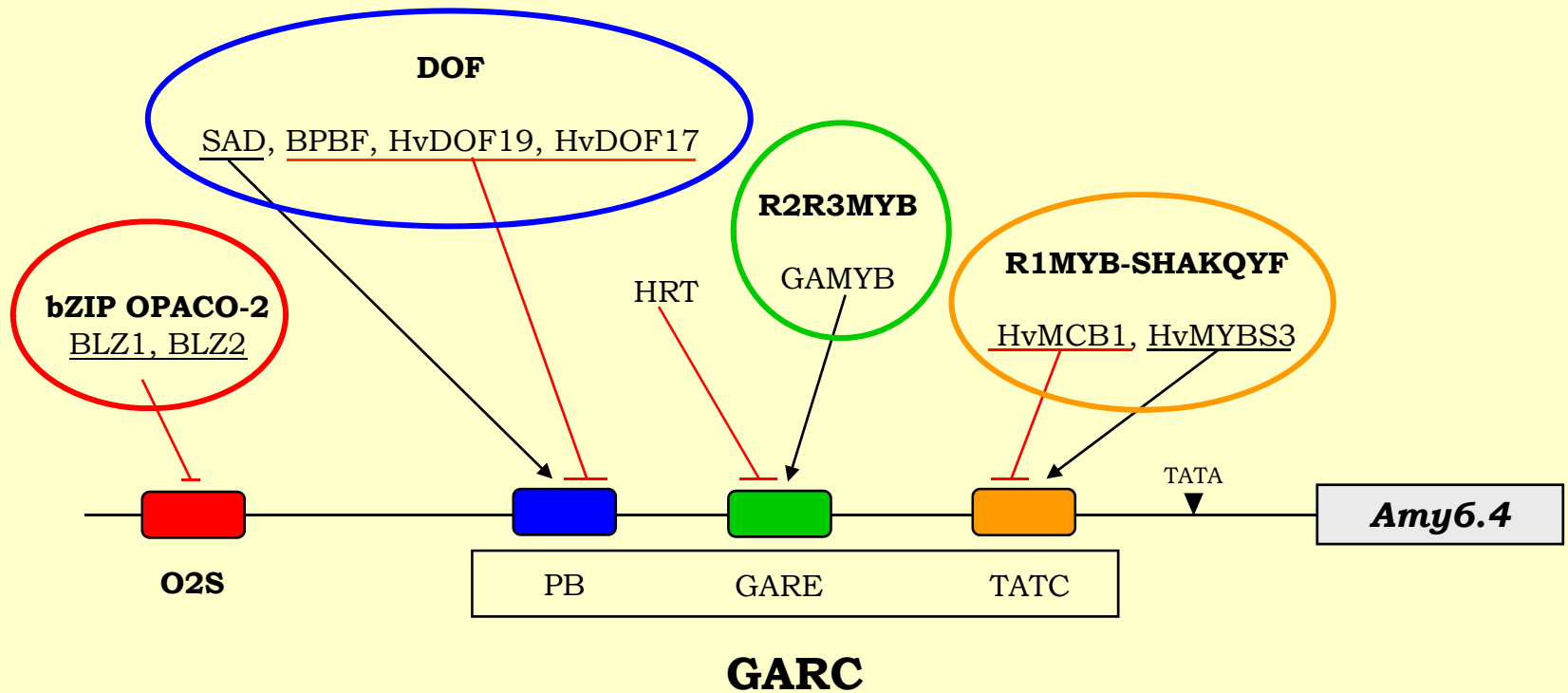
- ALMIDÓN (aprox. 80%)
- AC.GRASOS (aprox. 2%)
- PROT. RESERVA (aprox. 12%)



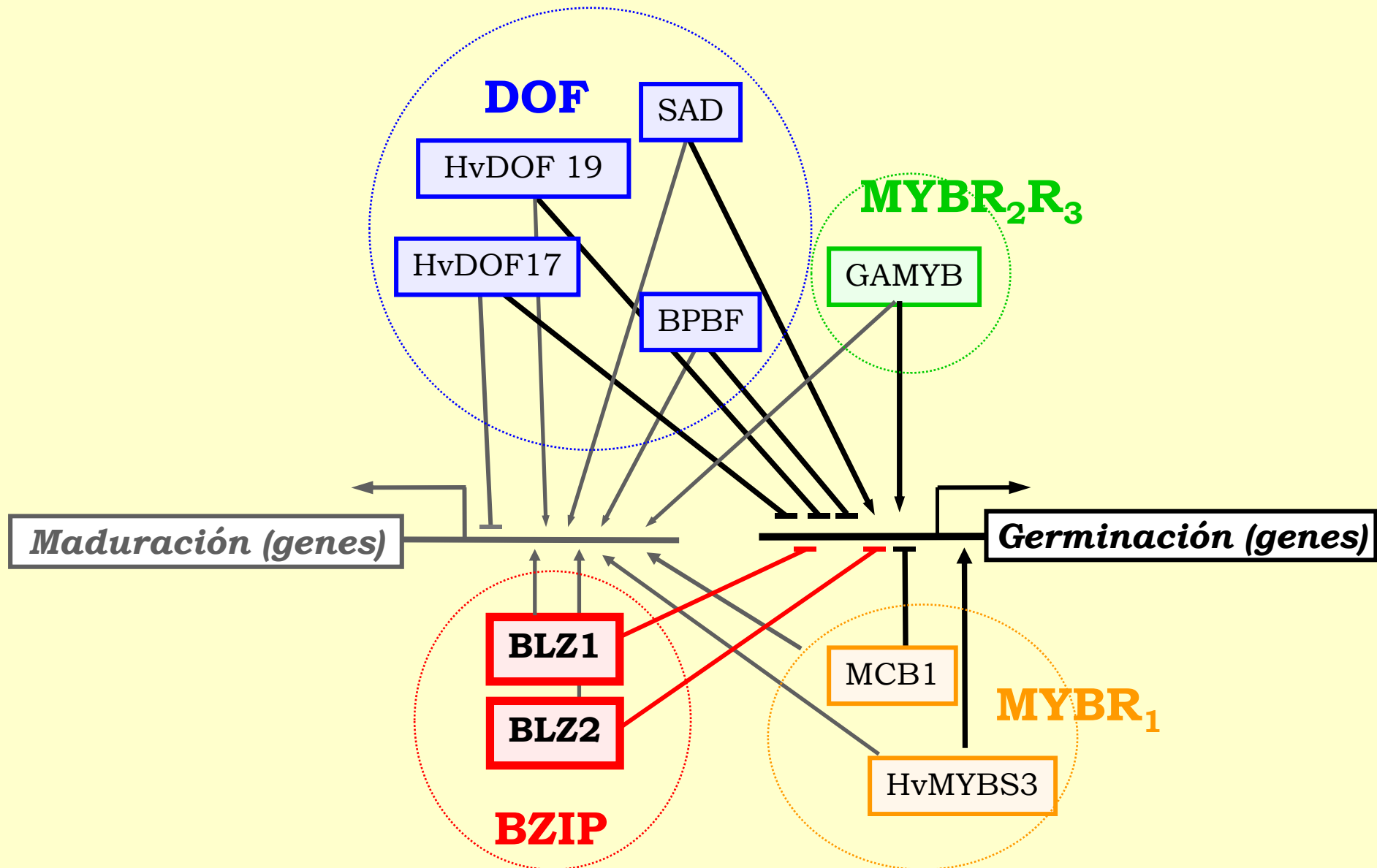
Regulación transcripcional en semillas de cebada



Regulación transcripcional en semillas de cebada



Regulación transcripcional en semillas de cebada



Regulación transcripcional en semillas de cebada

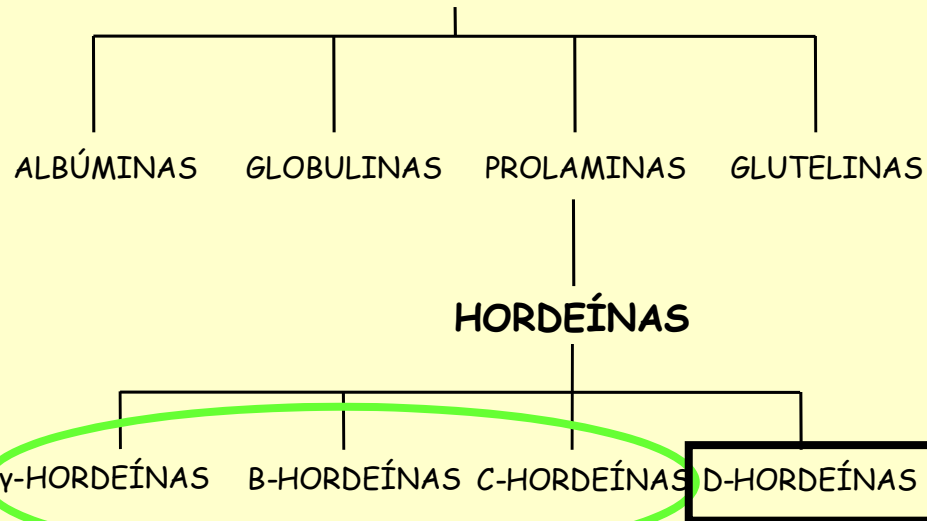
cv. Bomi



cv. Risø 1508



Mutagénesis
Etileneimina →



Regulación transcripcional en semillas de cebada

cv. Risø 1508



Locus *lys3a* situado en el cromosoma 7

- La mutación segrega como único carácter mendeliano

- Variación en los niveles de proteínas de reserva:

- Prolaminas: B-Hor, C-Hor, γ -Hor ↓
- Inhibidor de tripsina Cme ↓
- ↑ albúminas y globulinas
- ↑ aas libres

- *Lys3a* regula en *trans* la expresión de genes específicos de endospermo

¿CUÁL ES EL GEN RESPONSABLE DE LA MUTACION EN RISO 1508?

Regulación transcripcional en semillas de cebada

Endopermos en desarrollo (~18dap)

Bomi/Riso (3 réplicas biológicas)

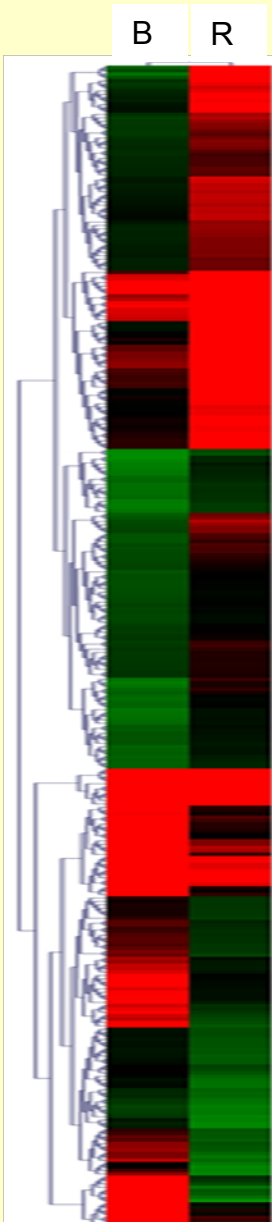
GeneChip Barley Genome Array (Affymetrix):
 350.000 ESTs + 1145 genes de cebada
 (25500genes)

Bomi	Riso	LogRatio	p-value	Anotación
B1	R1	$\text{Log B1/R1} \geq 1.5 $	$P \leq 0.05$	ESTs/ Genes/ Homología

345 GDE

213 inducidos

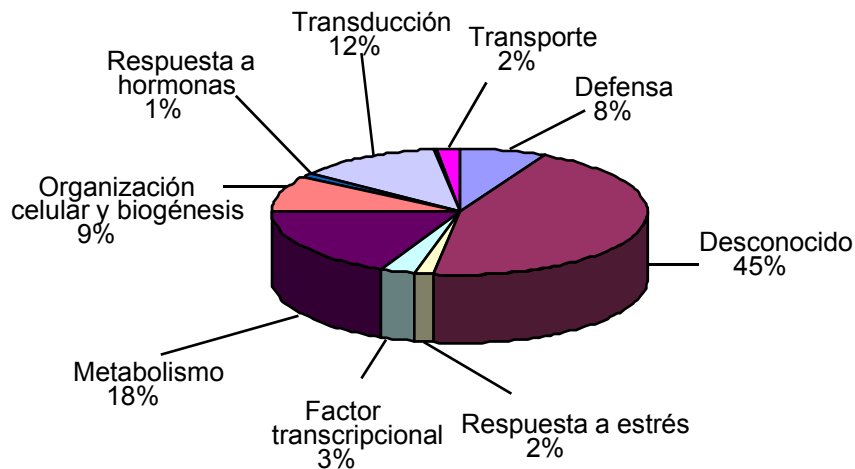
132 reprimidos



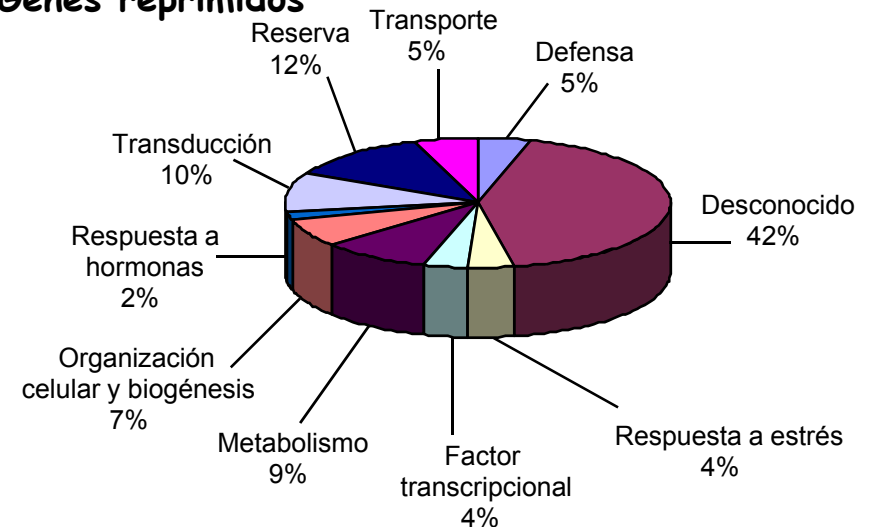
Regulación transcripcional en semillas de cebada

Bomi	Riso	LogRatio	p-value	Anotación
B1	R1	$\text{Log B1/R1} \geq 1.5 $	$p \leq 0.05$	ESTs/ Genes/ Homología

Genes inducidos

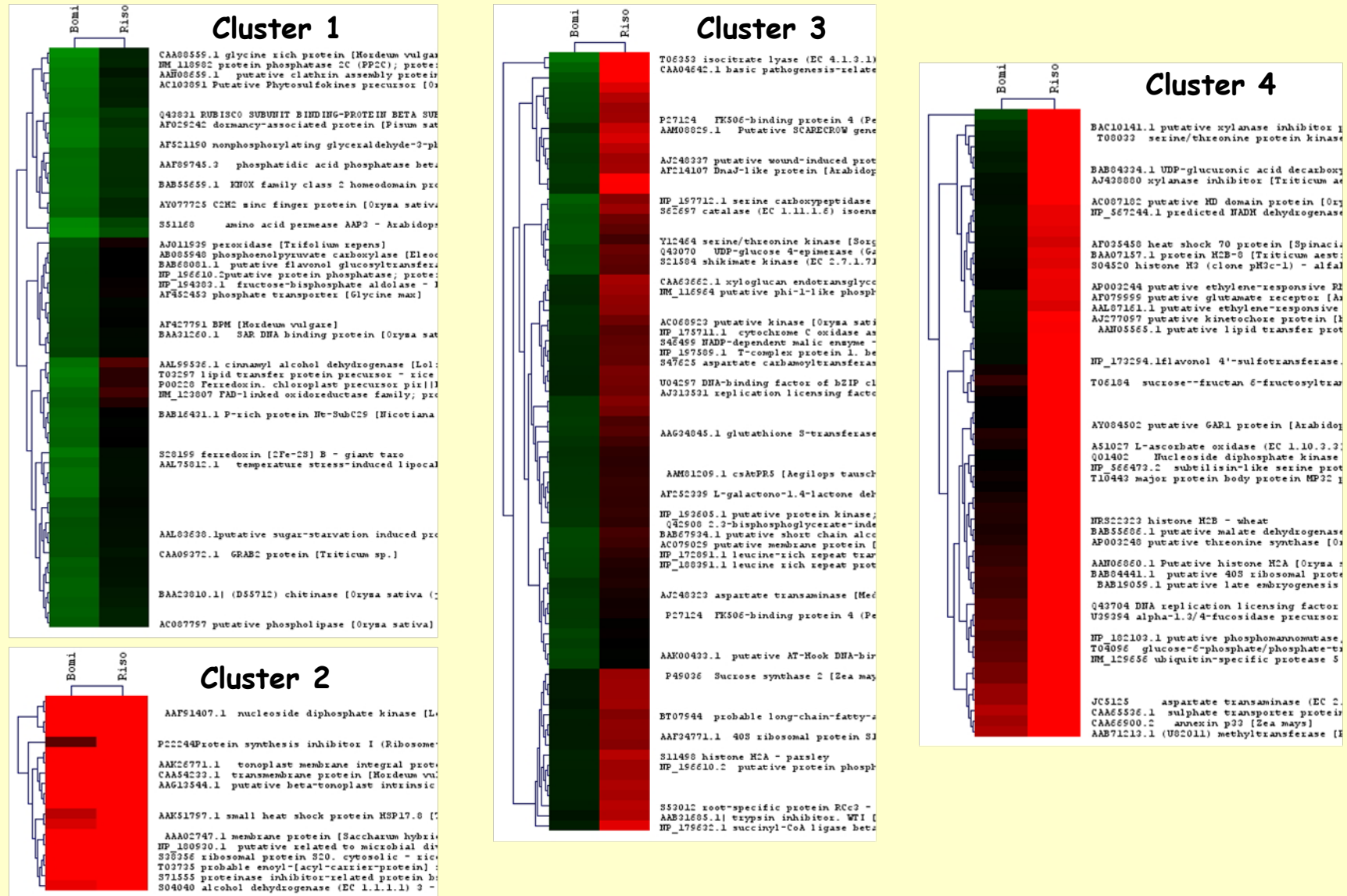


Genes reprimidos



Regulación transcripcional en semillas de cebada

Cluster de expresión de los genes inducidos en el mutante Riso1508

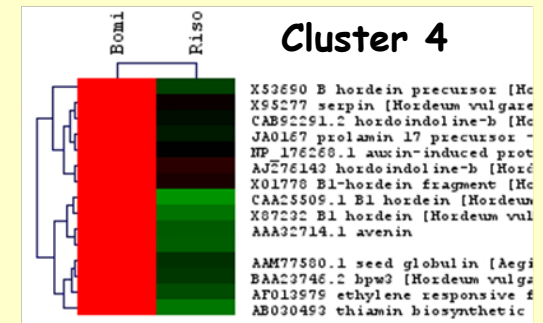
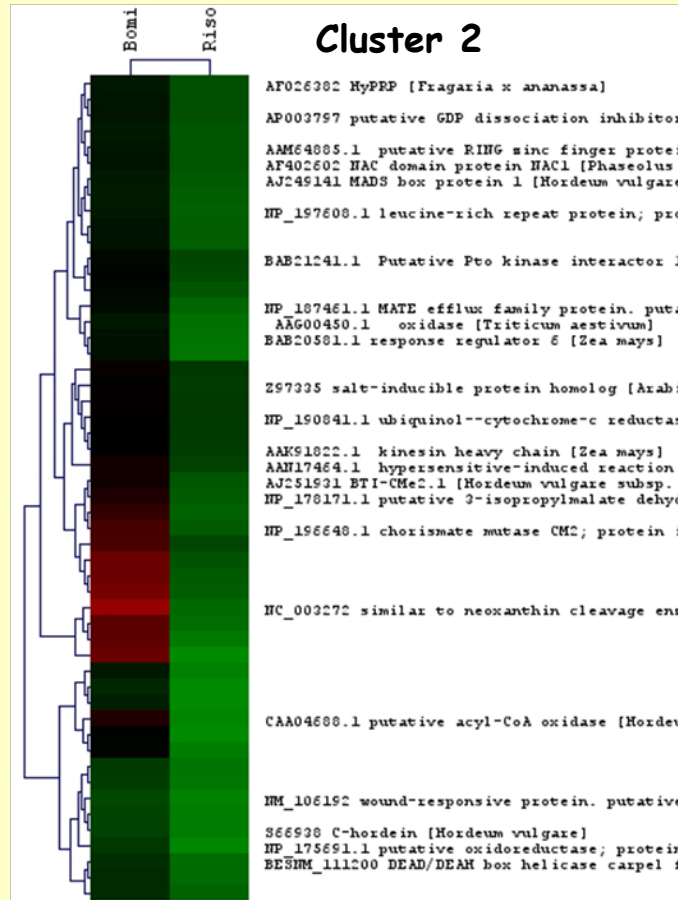
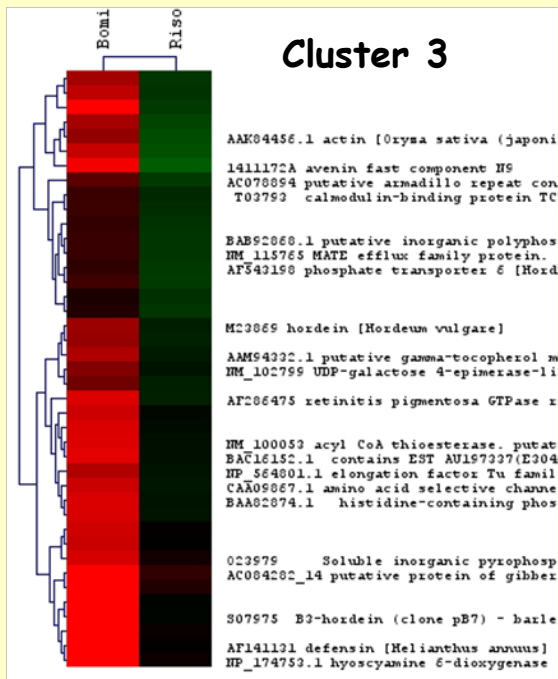
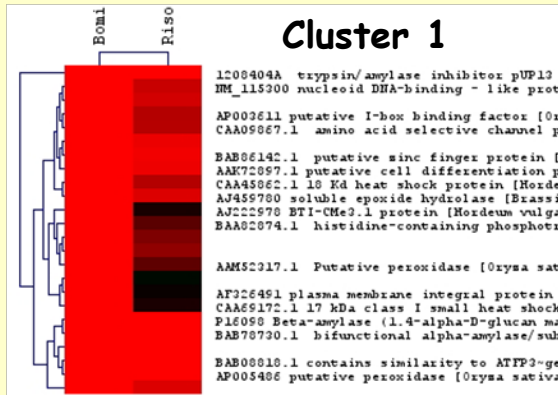


Regulación transcripcional en semillas de cebada

LogRatio	p-value	Anotación
2,37	0,0092	AAM08829.1 Putative SCARECROW gene regulator-like [Oryza sativa (japonica cultivar-group)]
2,07	0,0054	CAA63662.1 xyloglucan endotransglycosylase (XET) [Hordeum vulgare subsp.
2,00	0,0039	NM_116964 putative phi-1-like phosphate-induced protein; protein id: At4g08950.1
1,93	0,0049	NP_196610.2 putative protein phosphatase; protein id: At5g10480.1
1,79	0,0073	AC068923 putative kinase [Oryza sativa (japonica cultivar-group)]
1,63	0,0380	NP_175711.1 cytochrome C oxidase assembly protein, putative; protein id: At1g53030.1
1,58	0,0033	P49036 Sucrose synthase 2 [Zea mays]
1,58	0,0022	AAF34771.1 40S ribosomal protein S11 [Euphorbia esula]
1,55	0,0050	S46499 NADP-dependent malic enzyme - rice
2,31	0,0136	AJ248337 putative wound-induced protein [Medicago sativa subsp. x varia]
2,12	0,0048	NP_179632.1 succinyl-CoA ligase beta subunit; protein id: At2g20420.1
5,57	0,0077	CAA04642.1 basic pathogenesis-related protein PR5 [Hordeum vulgare subsp.
1,57	0,0195	AAB31685.1 trypsin inhibitor, WTI [Triticum aestivum=wheat, variety San
1,65	0,0000	AAK00433.1 putative AT-Hook DNA-binding protein [Oryza sativa]
2,55	0,0008	Y12464 serine/threonine kinase [Sorghum bicolor]
3,15	0,0001	S62697 catalase (EC 1.11.1.6) isoenzyme 2 - barley
3,23	0,0012	NP_197712.1 serine carboxypeptidase II-like protein; protein id: At5g23210.1 [Arabidopsis thaliana]
5,07	0,0004	T06353 isocitrate lyase (EC 4.1.3.1) - tomato
2,62	0,0002	P27124 FK506-binding protein 4 (Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase) (PPIase) (Rotamase) (p59 protein)
1,68	0,0006	Q42908 2,3-bisphosphoglycerate-independent phosphoglycerate mutase (Phosphoglyceromutase) (PGAM-I)

Regulación transcripcional en semillas de cebada

Cluster de expresión de los genes reprimidos en el mutante Riso1508

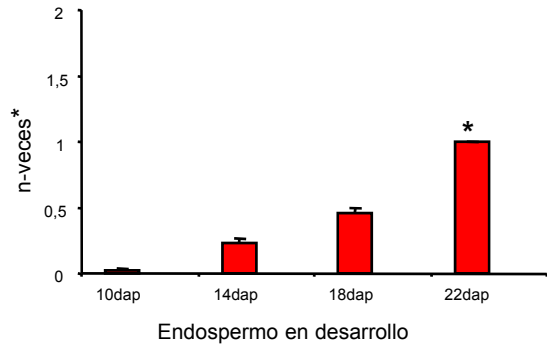


Regulación transcripcional en semillas de cebada

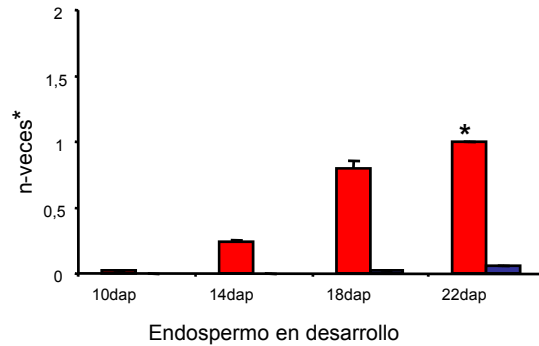
LogRatio	p-value	Anotación
-5,86	0,0004	X95277 serpin [Hordeum vulgare subsp. vulgare]
-5,90	0,0000	JA0167 prolamin 17 precursor - rice
-6,17	0,0000	CAB92291.2 hordoindoline-b [Hordeum vulgare subsp. vulgare]
-8,75	0,0000	CAA25509.1 B1 hordein [Hordeum vulgare]
-9,37	0,0000	X53690 B hordein precursor [Hordeum vulgare subsp. vulgare]
-4,95	0,0000	NP_176268.1 auxin-induced protein, putative; protein id: At1g60690.1 [Arabidopsis thaliana]
-5,21	0,0002	AAM77580.1 seed globulin [Aegilops tauschii]
-5,96	0,0000	BAA23746.2 bpw3 [Hordeum vulgare subsp. vulgare]
-5,99	0,0001	AF013979 ethylene responsive factor [Oryza sativa]
-6,10	0,0000	AJ276143 hordoindoline-b [Hordeum vulgare subsp. vulgare]
-6,86	0,0008	X01778 B1-hordein fragment [Hordeum vulgare]
-7,75	0,0000	AAA32714.1 avenin
-8,02	0,0000	X87232 B1 hordein [Hordeum vulgare]
-6,71	0,0000	AB030493 thiamin biosynthetic enzyme [Glycine max]
-2,64	0,0001	AJ222978 BTI-CMe3.1 protein [Hordeum vulgare]
-2,45	0,0006	AJ251931 BTI-CMe2.1 [Hordeum vulgare subsp. vulgare]
-1,60	0,0408	S66938 C-hordein [Hordeum vulgare]
-1,57	0,0099	BAB78730.1 bifunctional alpha-amylase/subtilisin inhibitor [Oryza sativa]

Regulación transcripcional en semillas de cebada

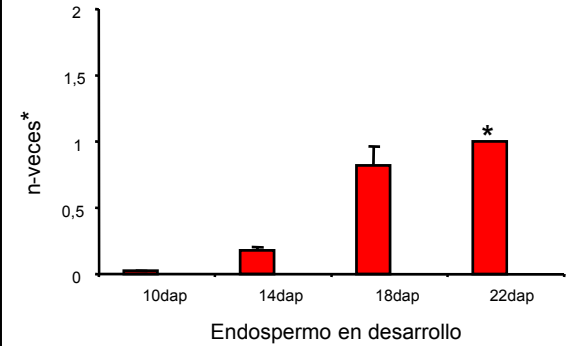
Hor2 (B-Hor)



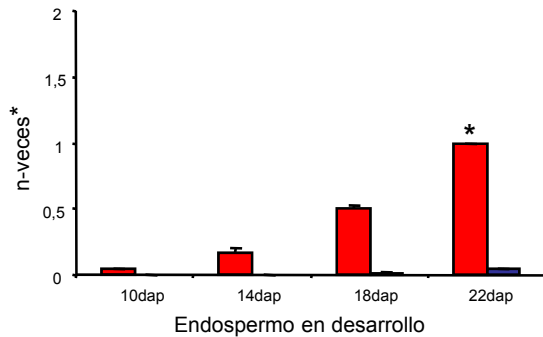
γ -Hor



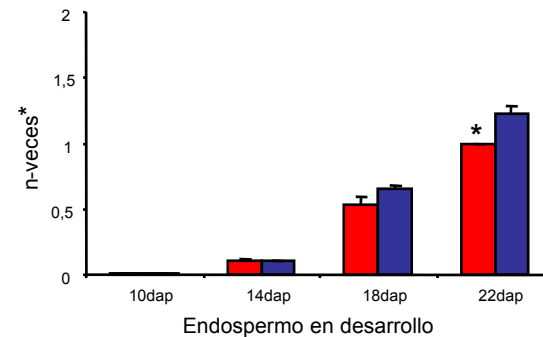
Hor 1-17 (C-Hor)



Itr1 (Cme)



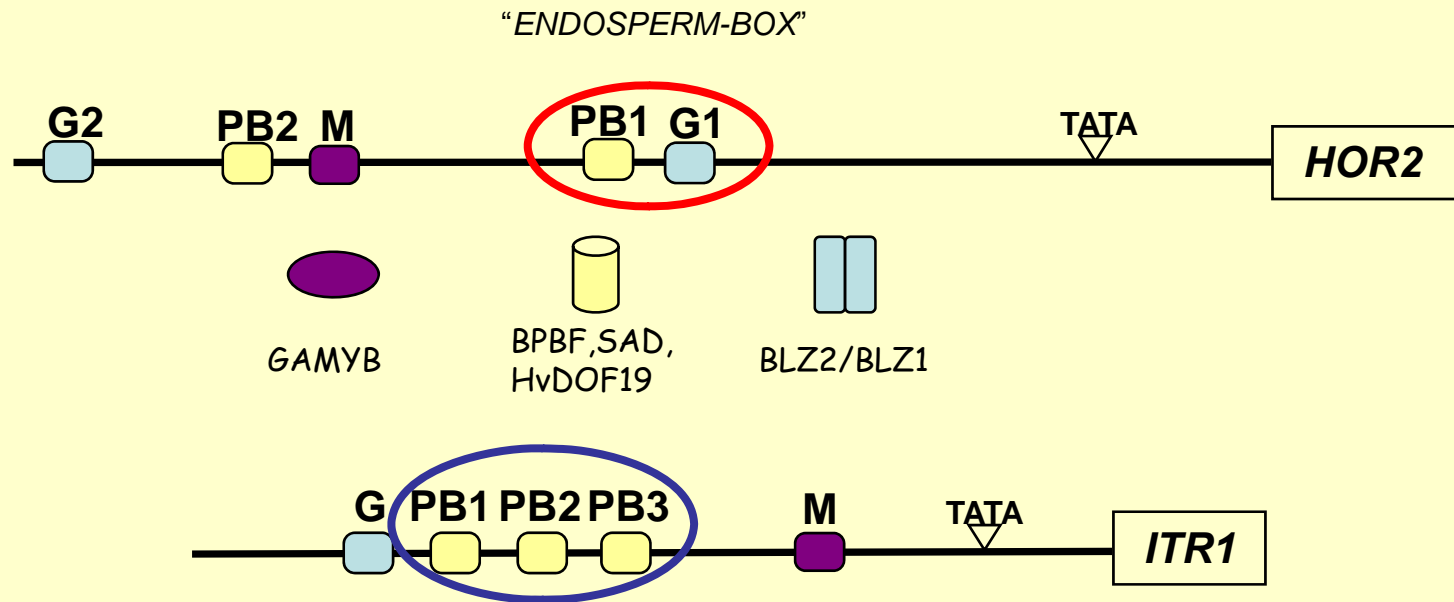
Hor3 (D-Hor)



■ Bomi

■ Riso1508

Regulación transcripcional en semillas de cebada

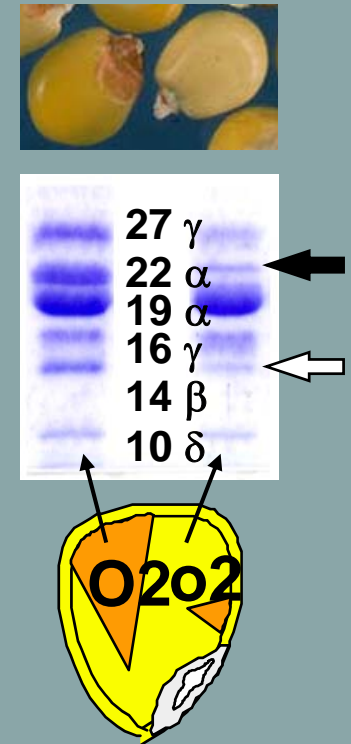
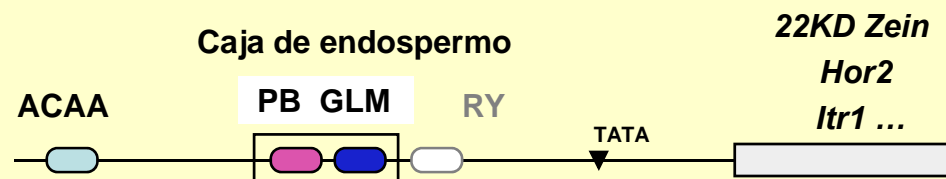


GEN	“ENDOSPERM-BOX”	POSICIÓN
<i>B-Hor</i>	TGACAT GTAAAG TGAATAAGGT AGTCAT GTCAT	-300
<i>γ-Hor</i>	TGAGAT GTAAAG TGAATAAGAT AGTCA -GCAC	-317
<i>C-Hor</i>	TGTAGT GTAAAG TGAA-AAAAT AGTCA -TCAT	-297
<i>D-Hor</i>	TGTTTT GTCAAAG CTCCAATTCCTCCTTGCTTAT	-242
<i>Itr1</i>	GATA ACTCAT G.(N60).CCA ACTTTT GTCAT.(N40).AAAA AGGTT .(N10).CC CTTTAAT	-155

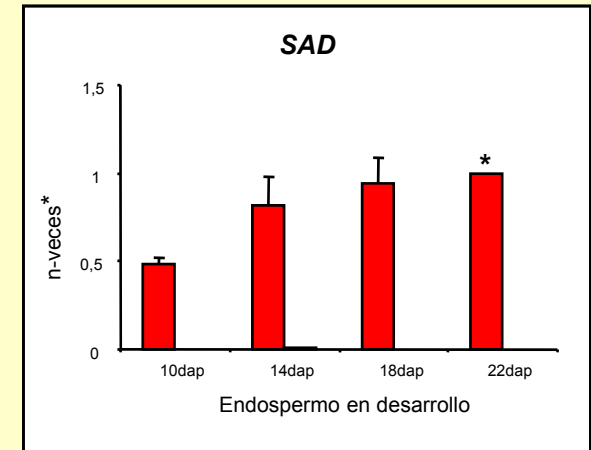
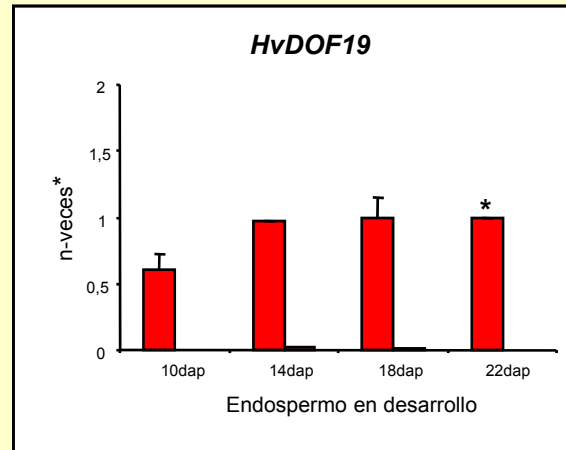
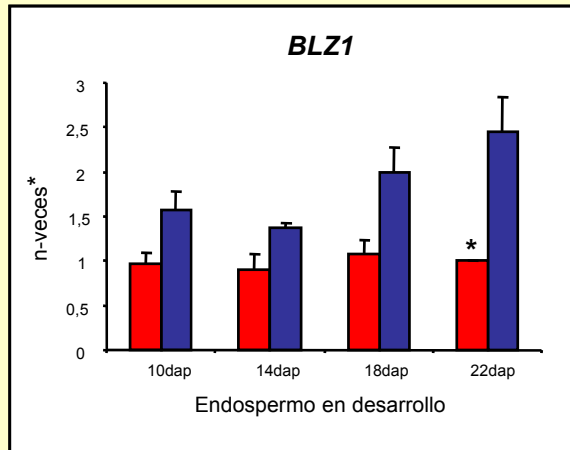
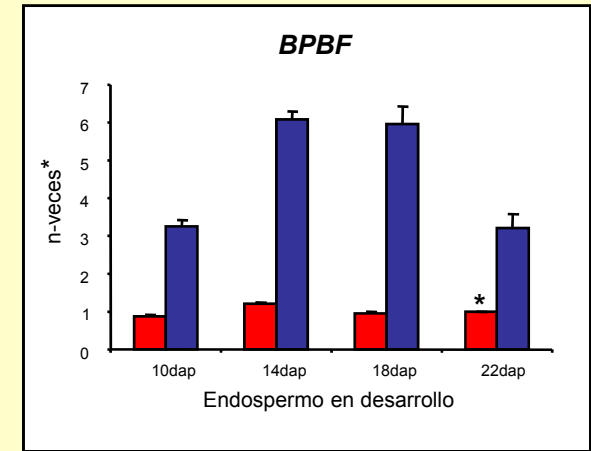
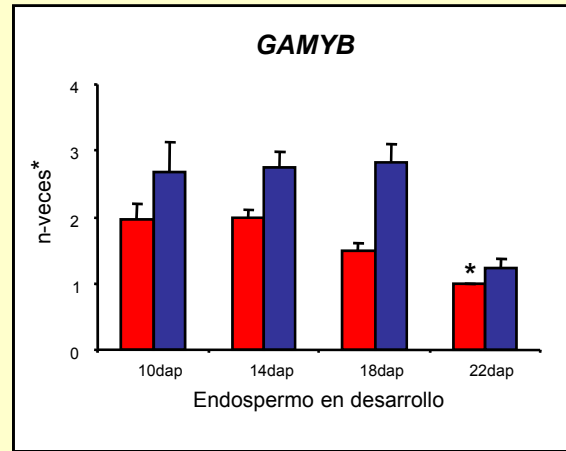
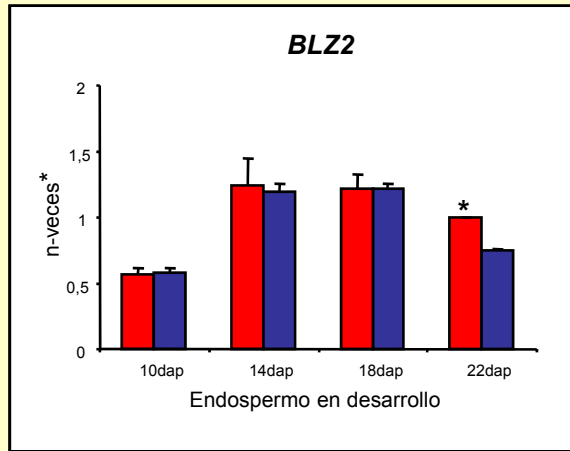
Regulación transcripcional en semillas de cebada

Elementos reguladores en promotores de genes de semillas están conservados

GEN	"ENDOSPERM-BOX"	POSICIÓN
22 kDa Zein	ACATGT GTAAAGGT .(N20).TCC ACG TAGATGA	-330
19 kDa Zein	ACATGT GTAAAGGT .(N20).CACATGTATTGG	-326



Regulación transcripcional en semillas de cebada



Regulación transcripcional en semillas de cebada

1. Caracterización funcional de los promotores de *Hor2*, *γ-Hor*, *Hor1*, *Hor3*.
2. Identificación y caracterización funcional en Bomi y Riso 1508 de los promotores de los genes que codifican TFs de la familia DOF: BPBF, SAD, HvDOF19.
3. ¿Cómo se regulan estos reguladores?
4. ¿En aleurona post-germinativa de Riso1508 qué TFs están implicados?

Regulación transcripcional en semillas de cebada

Centro de Biotecnología y Genómica de Plantas (CBGP)

Universidad Politécnica de Madrid

Pilar Carbonero

Cristina Barrero

Sara Hernando-Amado

Luis Oñate-Sánchez

Paloma Rueda

Inmaculada Gude

David Solera

M.A. Moreno-Risueño

